

**Serumproteindifferenzierung
in PAA-Fertig-Gelen, unter besonderer
Berücksichtigung der α -Globuline**

von
Darjusch D. Farhud
aus
Teheran/Persien



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546226_0081

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Serumproteindifferenzierung in PAA-Fertig-Gelen, unter besonderer Berücksichtigung der α -Globuline

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Darjusch D. Farhud
aus
Teheran/Persien

Gedruckt mit der Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan : Prof. Dr.med. W. Schiefer

Referent: Prof. Dr.med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 4.8.1970

Herrn Professor Dr.F. Scheiffarth
möchte ich für die freundliche Über-
nahme des Referats und die Überlassung
des Themas herzlich danken.

Ein besonderes Anliegen ist es mir,
Frl.Priv.Doiz.Dr.H.Götz, die mir mit
Rat und Tat hilfreich zur Seite stand,
meinen Dank auszusprechen.

Nicht zuletzt möchte ich mich aufrichtig
für die finanzielle Unterstützung seitens
der Friedrich-Ebert-Stiftung bedanken,
was mir die Beendigung meines Studiums
erleichterte.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung.....	1-3
Versuchsordnung und Methodik.....	3-23
Ergebnisse.....	23-26
Diskussion.....	27-30
Literaturverzeichnis.....	31-35

A. EINLEITUNG

Die elektrophoretische Trennung von Serumproteinen im PAA-Gel führt im Vergleich zu anderen Elektrophoresemedien (3,11,17), wenn man von Stärkegel (3,8,11) absieht, zu einer wesentlich besseren Differenzierung. Der Stärkegel-Elektrophorese (2,16,17) gegenüber bietet das PAA-Gel durch seine größere Transparenz noch größere Vorteile (4,5,7,20). Nachteil ist jedoch die relative Zeitanwendung, Aufbereitungsmodus des PAA-Gels, weshalb es begrüßenswert erschien, daß sich die Industrie um die Herstellung solcher Fertiggele bemüht hat. (+)

Nach bisherigen eigenen Erfahrungen mit der PAA-Gel-Elektrophorese (12,13) ist eine Eignung dieser neueren Technik zur Serumproteinanalyse für das klinische Routine-Laboratorium noch nicht gegeben. Dies vor allem des-

(+) Original Gebrauchsanleitung Behringwerke,
Marburg

halb, weil durch die bessere Differenzierung und zugleich größere Ausbeute der Serum- und auch anderer Eiweißproben die exakte Definierung der darstellbaren Fraktionen bis zur Stunde noch nicht abgeschlossen ist.

Es hat sich vor allem gezeigt, daß die Benennung der einzelnen Fraktionen nach ihren elektrophoretischen Eigenschaften nicht für vergleichende elektrophoretische Befunde in andere Trennmedien herangezogen werden kann, da die elektrophoretische Mobilität in einzelnen Fraktionen im PAA-Gel völlig von den elektrophoretischen Eigenschaften der gleichen Fraktion in anderen Medien abweicht.

Andrerseits sollten aber die Vorteile des PAA-Gels in Bezug auf ihre bereichernde Eiweißdifferenzierung auch für die Klinik gewahrt werden.

Wir haben deshalb geprüft, inwieweit unter Verwendung käuflicher PAA-Fertig-Gele (Typ C) die Konstellationstypen der Serum- α -Globuline reproduzierbare Muster liefern.

Wir haben darüber hinaus an dem zur Verfügung stehenden Untersuchungsgut die Konstellationstypen des Haptoglobins und Transferrinsystems studiert.

B. I. UNTERSUCHUNGSGUT, VERSUCHSANORDNUNG UND METHODIK

1. Untersuchungsgut:

Die vorliegenden Analysen wurden an insgesamt 110 Seren einer selbstgesammelten Heimatpopulation (Persien) vorgenommen. Die Seren wurden unverzüglich nach Blutabnahme hämolysefrei, lipemiefrei tiefgefroren, gesammelt und gemeinsam, d.h. zu einem späteren einheitlichen Zeitpunkt per Flugzeug von Persien mitgebracht.

Bei diesen Seren handelte es sich um ein unausgewähltes Populationsgut, welches sich in der Blutspendezentrale der Universitätsklinik von Teheran eingefunden hatte. Die Zahl der mitgebrachten Einzelseren betrug 1100, die ursprünglich für eine andere Untersuchung verwendet wurden. (6) Aus diesem Kollektiv wurden später die oben genannten 110 Seren wahllos entnommen. Die verbliebenen Seren sind für eine andere Protein-Analyse vorgesehen, die hier keine Erwähnung finden wird.

(+)

2. Versuchsanordnung:

Jedes der 110 Seren wurde mit Hilfe der PAA¹-Elektrophorese und nachfolgender Protein-Färbung sowie nach Versetzen mit Hämoglobin ebenfalls PAA-Gel-elektrophoretisch mit nachfolgender Benzidinreaktion zur Darstellung der Hp-Typen analysiert.

(+) Relationsverschiebung der Globuline bei Blutspenden innerhalb sehr kurzer Abstände.

3. Methoden:

a) PAA-Gel-Elektrophorese

Es wurden die handelsüblichen PAA-Fertig-Gele der Firma Behringwerke (+) verwendet. Es handelt sich um ein PAA-Gel, das speziell für die Trennung der H₂-Typen als optimal bezeichnet wird.

Gel-Puffer: Auf die Bestandteile der Gel-Puffer wird hier nicht näher eingegangen, da nur die oben genannten Fertig-Gele verwendet wurden.

Elektroden-Puffer: 69,5 g + 15 g NaOH
+ destilliertes Wasser ad 5 l.

(+) Packungen mit je 5 PAA-Fertig-Gelen
(Typ C)

Arbeitsvorschrift: (++)

Das Gel ist gebrauchsfertig abgepackt und muß stets kühl aufbewahrt werden. Man kann pro Gel 20 - 30 Serumproben bzw. Plasmaproben untersuchen (optimal 24 - 26 und um eine klare Trennung zu erreichen sogar weniger). Ein vorheriges Versetzen der Proben mit Hämoglobin ist nicht unbedingt notwendig (aber auch hämolysierte Seren sind verwendbar). Zur Rationalisierung kann das Gel auch je nach der zu untersuchenden Serumzahl in kleinere Stücke zerschnitten werden und zwar folgendermaßen:

Von der Längsseite des Gels wird das benötigte Stück abgeschnitten. Die Serumproben sind dann logischerweise immer so anzusetzen, daß die Stromlaufstrecke nach wie vor der

(++) Vergleich: Orig. Gebrauchsanleitung der Firma Behringwerke zur Haptoglobintypisierung mit PAA-Fertig-Gelen.

Breite des Original-Gels (ca. 8 cm) entspricht, damit die Elektrophoresezeit nicht geändert werden muß. Der unbenutzte, restliche Teil des Gels wird dann wieder vorsichtig zwischen die beiden vorhandenen Zellophanschutzplatten geschoben und das Ganze in dem Plastikbeutel aufbewahrt, der sorgfältig mit Tesafilm oder Leukoplast am Schnitttrand entlang verschlossen wird, damit die darin enthaltene Feuchtigkeit nicht entweichen kann. Dieses so verpackte Reststück ist im Kühlschrank für den nächsten Versuch aufzubewahren.

Die ganze Vorbereitung und Versuchsdauer beträgt insgesamt etwa 4 Stunden.

Vorbereitung des Gels:

Der Verpackungsbeutel wird an je einer Längs- und Querseite mit einer Schere vorsichtig aufgeschnitten. Die darin vorhandene Flüssigkeit wird auf eine Glasplatte von ca.

15 x 25 cm gegossen. Die von zwei Schutzfolien bedeckte Gelplatte wird der Packung entnommen, die obere Folie entfernt, und dann läßt man die Gelplatte vorsichtig von der unteren Folie auf die vorbereitete, feuchte Glasplatte gleiten. Die beiden Schutzfolien sind sodann mit Wasser abzuspülen und zu trocknen.

Um die Gelplatte von der Flüssigkeit zu befreien, nimmt man nasses Filterpapier (Schleicher & Schüll, Nr. 597 oder ein anderes), tupft es auf trockenem Filterpapier ab, damit es nicht zu feucht ist, da sonst seine Saugfähigkeit vom Wasser gesättigt ist, (aber es darf nicht ganz trockenes Filterpapier verwendet werden, da sonst das ganze Gel am Filterpapier haften bleibt und beschädigt wird).

Anschließend legt man es auf die Gelplatte und zieht es wieder vorsichtig ab. Diesen Vorgang wiederholt man solange, bis die Gel-

oberfläche gleichmäßig matt und frei von Feuchtigkeit ist.

Eine getrocknete Schutzfolie legt man blasenfrei auf die Gel-Oberfläche, indem man an einer Stelle beginnt, um dann die Folie langsam auf die Gelplatte aufzulegen (eingeschlossene Luftblasen durch Anheben und Wiederauflegen der Schutzfolie entfernen, nicht durch Druck austreiben, denn sonst beschädigt man das Gel).

Jetzt wird die untere Seite des Gels, die noch auf der Glasplatte liegt, genauso wie die obere Seite mit feuchtem Filterpapier getrocknet. Hierfür drehen wir die Glasplatte um, so daß die obere Seite des Gels mit der Schutzfolie nach unten liegt.

Damit sich das Gel besser von der Glasplatte löst, lüftet man es an einer Ecke und läßt es langsam, nach unten hängend, ablösen. Die zweite Schutzfolie legt man nun so auf die trockene Geloberseite, daß an der Seite, auf

die man die Serumproben auftragen will,
ca. 1 cm freibleibt.

Jetzt wird dieser freibleibende, ca. 1 cm breite Gelstreifen (entlang der Schutzfolienkante, die wir also nur als Lineal benutzen und nachher wieder abnehmen) mit einer Rasierklinge oder einem sehr scharfen und dünnen Präpariermesser vorsichtig und langsam, unter Auf- und Abbewegungen, abgeschnitten.

Damit an den Schnittkanten keine Verzerrungen und Verletzungen entstehen, und das Messer leichter in der so entstehenden Rinne entlanggleitet, muß es zwischendurch öfter in Wasser getaucht werden. Danach ist das Gel und auch die Innenseite der Rinne wieder mit feuchtem Filterpapier absutrocknen.

Ein glatter und unverletzter Schnitt des Gels garantiert eine bessere Trennungsgüte.

Bei größeren Versuchen, bei denen mehrere PAA-Gele benutzt werden sollen, bereitet man jedes Gel bis zu diesem Stadium vor. Diejenigen Versuche, die man nicht sofort weiter ausführt, sind zur Verhütung von Verdunstung mit trockenen Schutzfolien sorgfältig abzudecken.

Beschickung des Gels:

Den abgeschnittenen, ca. 1 cm breiten Gelstreifen schiebt man mit dem Messer vorsichtig einige Millimeter zurück. Die der Packung beigelegten Papierstreifen in kleine Stücke von maximal 4 mm Länge schneiden. Bei Fehlen dieses Papierstreifens können wir auch Filterpapier (Schleicher & Schüll, Nr. 597 oder 598) in Streifen von ca. 2 mm Breite (darf nicht breiter sein als die Dicke der Gelplatte) schneiden, um dann davon wieder kleine Stücke von 4 mm Länge abzuschneiden.

Das Zuschneiden der Papiere muß mit ganz sauberen und trockenen Fingern oder mit einer Pinzette erfolgen.

Nun wird jeweils eines von den vorbereiteten Segmenten mit einer spitzen Pinzette mit dem zu untersuchenden Serum getränkt, (Serum vor Gebrauch kräftig schütteln) dann auf einem trockenem Filterpapier abgetupft, so daß die überschüssige Flüssigkeit aufgesaugt wird (die Pinzette jedes Mal mit Wasser säubern und trocknen). Das abgetupfte Segment mit der Pinzette an die Innenseite der Schnittfläche des größeren Gelteils legen; aber es darf nicht - wie schon erwähnt - über die Oberfläche des Gels hinausragen,

Der Mindestabstand zwischen den einzelnen, anzulegenden Segmenten soll ca. 2 - 3 mm betragen. Es ist gegebenenfalls ratsam, den

Abstand zu vergrößern, um später erfahrungsgemäß gute Reproduktionen zu erzielen.

Nachdem alle zu untersuchenden Seren, wie oben genannt, eingesetzt worden sind, wird der 1 cm breite Gelstreifen langsam und gleichmäßig an den größeren Gel-Teil herangeschoben und die Auftragstelle luftblasenfrei geschlossen. Jetzt wird die Schutzfolie, die wir so zugeschnitten haben, daß an der Seite, an der die Seren eingesetzt worden sind und an der gegenüberliegenden Seite jeweils 3 - 5 mm freibleiben, auf die Gelplatte blasenfrei aufgelegt, (eingeschlossene Luftblasen werden durch Anheben und Wiederauflegen der Schutzfolie entfernt und nicht durch Druck ausgestrichen, da hierbei das Gel beschädigt würde).

Elektrophorese:

Dieser auf beiden Seiten der Gelplatte freibleibende Rand dient (nach Auflegen des Gels in die Elektrophoresekammer) zur Kontaktaufnahme des Gels mit dem getränkten, in Elektrodenpuffer hängendem Filterpapier (z.B. doppelt gelegt Schleicher & Schüll, Nr. 597) und dadurch mit dem Elektrodenpuffer. Diese getränkten Filterpapiere sollen jeweils ca. 2 cm breit die obere Zelluloidfolie bedecken, und seitlich genügt es, wenn sie nur 2 - 3 mm über die Gelplatte hinausragen.

Die Seite, an der die Seren aufgetragen sind, hat durch die feuchten Filterpapiere Kontakt mit dem Kathodengefäß.

Obwohl in der Original-Gebrauchsanleitung der Firma Behringwerke zur Haptoglobin-Typisierung mit Polyacrylamid-Fertig-Gelen eine Gesamtspannung von 16 - 24 V und die Elektrophoresedauer von 2 - 2 1/2 Stunden angegeben ist, haben wir bei unseren Versuchen festgestellt, daß eine Gesamtspannung von optimal 100 V und eine Laufzeit von optimal 3 Stunden notwendig sind. Nach 5 - 10 Minuten ist die Spannungsmessung sicherheitshalber zu kontrollieren.

Nach 1 - 1 1/2 Stunden ist eine anodisch laufende, deutlich sichtbare Linie (Gradient) im Gel zu sehen, die nach Überwanderung der Auftragstelle durch Mitnahme des freien Hämoglobins gelb (bis braun) gefärbt ist.

(Albumin- und Prealbuminfraktionen sind nach Färbung bei dieser Linie zu differenzieren).

Eine optimale Differenzierung der Proteinfractionen ist gegeben, wenn der Gradient sich ca. 3 cm von der Auftragstelle anodisch entfernt hat, wie erwähnt, bei optimal 100 V Spannung nach 3 Stunden. (Bei zu kurzer Elektrophoresedauer sind die einzelnen Fraktionen zu dicht beieinander und schwierig zu differenzieren.)

Nun ist der Versuch beendet, Elektrophorese-Apparat wird abgeschaltet, und die Gelplatte mit dem unterliegenden Glas wird vorsichtig aus dem Elektrophoresetrog herausgeholt.

Die beiden Elektroden-Filterpapiere und die obere Schutzfolie werden abgenommen. Der ca. 1 cm breite Gelstreifen und die kleinen Filterpapiersegmente werden entfernt und die Gelplatte kann nun gefärbt werden, (dagegen unscharf und schwer differenzierbar bei zu langer Dauer der Elektrophorese.)

F ä r b u n g:

a) Protein-Färbung mit Amidoschwarz 10B(+)

Zur Darstellung und Differenzierung der Proteinfractionen in Humanserum bzw. in den Organextrakten, wird das Gel etwa 2 Stunden lang (oder noch länger, sogar über Nacht) unter leichter Hin- und Herbewegung (oder auch ohne diese) mit Amidoschwarzfärbung eingefärbt.

Zunächst wird ein kleiner Teil der Färbelösung in eine Färbeschale gegossen, dann wird die zu färbende Gelplatte vorsichtig hineingelegt und die restliche Farblösung langsam darübergegossen.

Die Gelplatte soll möglichst ständig in die Färbelösung getaucht sein und nicht obenauf schwimmen. Diese Färbelösung kann

(+) von Firma Merck, Darmstadt

In zugedecktem Zustand für weitere Gelfärbungen aufgehoben werden, indem man aber immer wieder etwas frische Färbelösung hinzugibt. (Diese Färbelösung färbt alles sehr schnell und intensiv, deshalb ist zu empfehlen, die Finger mit Gummihandschuhen oder Gummifingern zu schützen).

Zur Entfärbung des eingefärbten Gels benutzen wir ein Gemisch von Methanol, Wasser und Essigsäure (Verhältnis 5 : 5 : 1); über Nacht stehen lassen.

Je nach der Intensivierung der Färbung genügt nicht immer nur das Stehenlassen über Nacht, sondern das Gel muß solange in der Entfärbelösung liegen bleiben, bis das Gel fast völlig farblos ist und klar und trotz oftmaligem Entfärbewechsel zum Schluß eine ziemlich klare Entfärbelösung zurückbleibt. So erreicht man bei fotografischer Dokumentation kontrastreichere Bilder.

Noch besser ist es, das Gel nach völliger Entfärbung vor dem Fotografieren für 1 bis einige Stunden in Aqua dest zu legen, denn durch diese Behandlung erhält das, durch die ganzen bisherigen Vorgänge zusammengeschrumpfte und matte Gel ein glasklares Aussehen; außerdem quillt es wieder etwas auf, (jedoch nicht zu lange in Aqua dest liegen lassen, da sonst die gefärbten Fraktionen gleichzeitig mitgespült werden).

Herstellung der Färbelösung:

1 g Amidoschwarz 10 B in 1 Liter eines Gemisches von Glyzerin 15 %ig und Azetatpuffer PH 3,7.

Azetatpuffer:

500 ml Essigsäure (60 ml Eisessig auf 1 l)

500 ml Azetatlösung (Natriumazetat 3 H₂O,
13,6 g auf 1 l)

Zu 850 ml Azetatpuffer werden 150 ml Glycerin gegeben.

b) Benzidin-Färbung:

Zunächst löst man 1 g Benzidin (+) unter Erwärmen in ca. 10 ml Eisessig.

Nach dem Abkühlen mit Eisessig auf 50 ml auffüllen. Das Ganze mit 50 ml Aqua dest auf 100 ml verdünnen.

(Es ist zu empfehlen, dieses Gemisch immer wieder frisch anzusetzen, aber bei kühler Aufbewahrung im Dunkeln ist es bis zu einer Woche verwendbar).

(+) von Firma Merck, Darmstadt

Nun wird kurz vor der Färbung je 100 ml der oben genannten Benzidinlösung 0,5 bis 1,0 ml (evtl. bei Bedarf etwas mehr) 30 %ige H_2O_2 (Perhydrol) zugesetzt. Gegebenenfalls kann man die ganze Vorbereitung von Benzidinlösung mit Verwendung von Benzidintabletten (von Firma Merck) ersetzen.

(Eine starke, breite, blaue Zone entsteht als erste, anodisch des Gradienten, was aber unser Ergebnis und die Differenzierung nicht stört.) Nach etwa 5 - 10 Minuten ist die Differenzierung der Haptoglobin-Typen bereits möglich. Zur Dokumentierung das blau angefärbte Gel mit nassen Händen (gleich wieder abwaschen) vorsichtig und blasenfrei auf eine matte Glasplatte legen, von unten beleuchten und abfotografieren.

Außerdem kann man nach dem Fotografieren von jedem einzelnen Gelstreifen extra die Kurven anfertigen.

Nach längerem Einwirken der Benzidin-
-Reaktion verwandelt sich der zuerst
blaue Farbton in einen rotbraunen, der
noch bisweilen zur Differenzierung und
Dokumentierung verwendbar ist, bis letz-
ten Endes alles ineinander überläuft und
verschwimmt. Deswegen muß die oben genann-
te Dokumentierung (Fotografierung und Kur-
venanfertigung) schnell durchgeführt wer-
den, da andernfalls das ganze Präparat
für Dokumentierung wertlos wird.

III. Ergebnisse:

1. PAA-Gel-Elektrophorese mit Protein-Färbung unter Berücksichtigung des gesamten -Globulin- sowie des Transferrinsystems.
2. PAA-Gel-Elektrophorese mit Benzidin-Reaktion zur Hp-Typen-Bestimmung.

Ergebnisse:

1. PAA-Gel-Elektrophorese mit Protein-Färbung unter Berücksichtigung des gesamten α -Globulin- sowie des Transferrinsystems:

Die mit Amidoschwarz darstellbaren Fraktionen der insgesamt 110 Seren ergaben eine Gesamtzahl von maximal bis zu 19; gewöhnlich wurden zwischen 14 - 16 Fraktionen einwandfrei differenziert. In vier außergewöhnlichen Fällen wurden 26 bzw. 29 Fraktionen gezählt. (Abb. 1 - 6)

Mit dem gewählten Puffer war der weit anodisch gewanderte Bereich, Prealbumin, Albumin und Postalbumin-Fraktionen weniger gut differenziert, als die Trennstrecke in den ersten beiden Dritteln vom Start aus betrachtet.

Nach heutiger Kenntnis kann eine Reihe bekannter Serumprotein-Fraktionen diesem im PAA-Gel getrennten komponenten System zugeordnet werden.

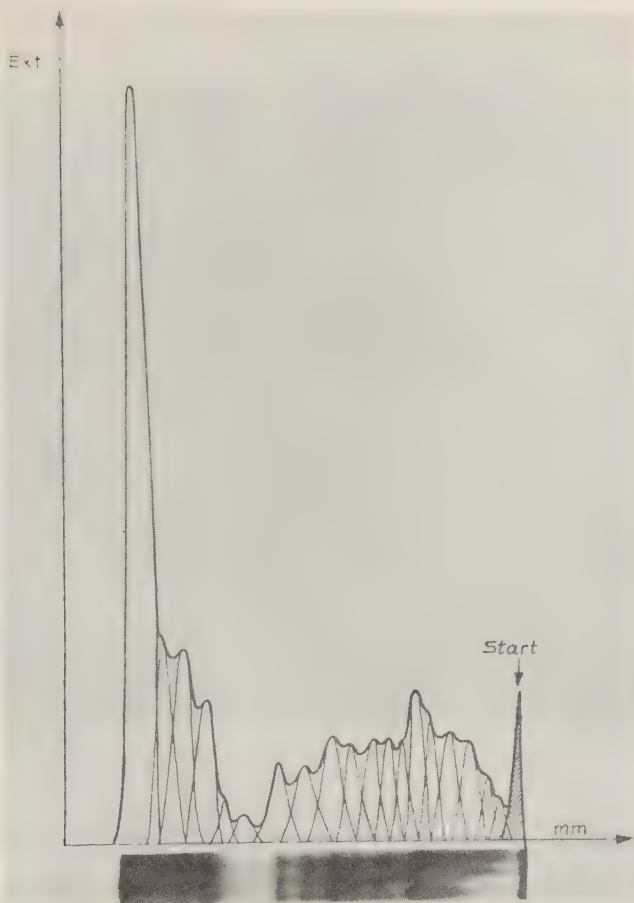


Abb. 1 Diagramm und PAA-Gel-Streifen (Färbung mit Amidoschwarz 10 B) eines normalen menschlichen Serums.
(Albuminkurve wurde komplettiert).

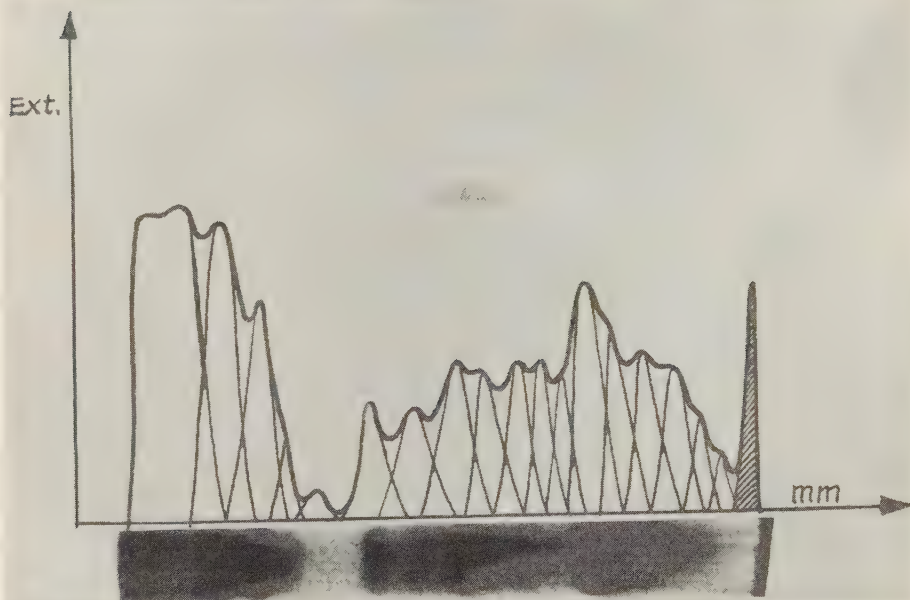


Abb. 2 Diagramm und PAA-Gel-Streifen des Serums eines Gesunden (Färbung mit Amidoschwarz 10 B).
(Albuminkurve wurde im Original wiedergegeben, also nicht komplettiert).

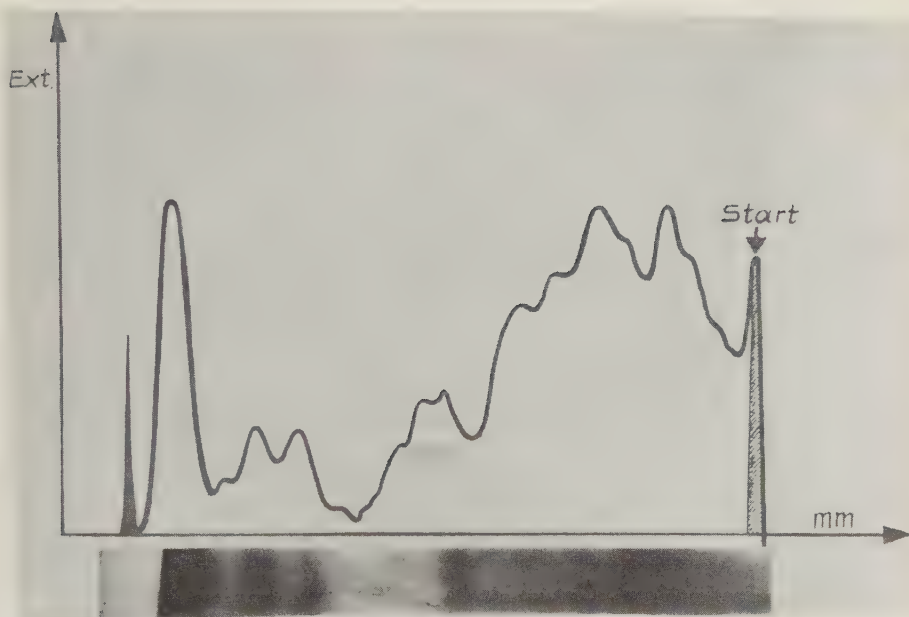


Abb. 3 Diagramm und PAA-Gel-Streifen eines Serums mit Dysproteinämie bei Hypalbuminämie. (Die Albuminkurve ist im Original wiedergegeben, komplett).

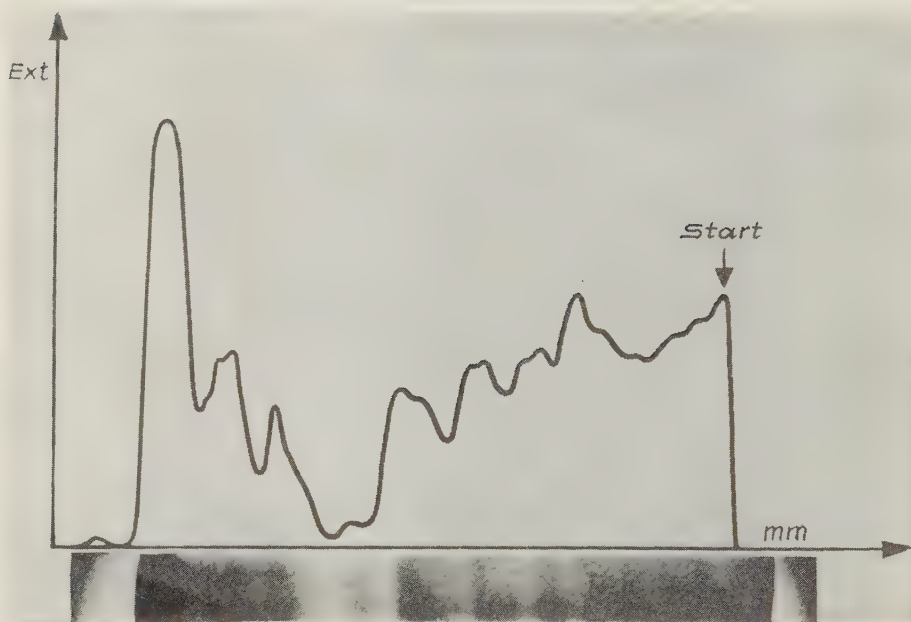


Abb. 4 Diagramm und PAA-Gel-Streifen eines Serums mit Dysproteinämie und Hypalbuminämie.
(Albuminkurve ist komplett).

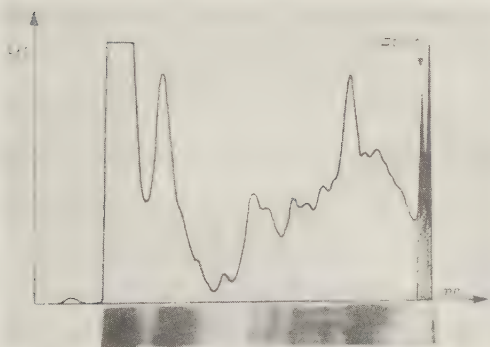
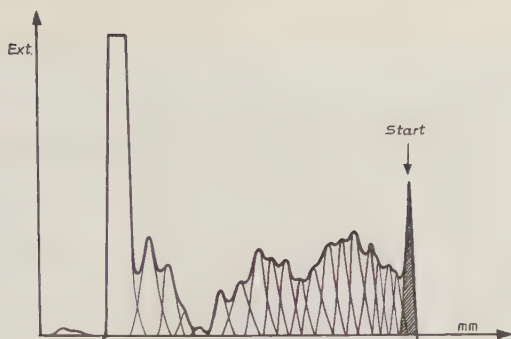


Abb. 5 Diagramme und PAA-Gel-Streifen menschlicher Seren.

O b e n : Serum eines Gesunden

U n t e n : Dysproteinämisches Serum

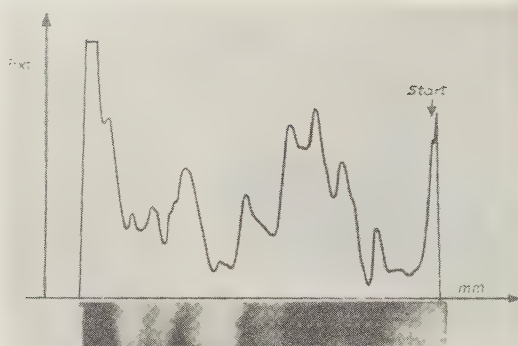


Abb. 6 Weitere Diagramme und PAA-Gel-Streifen pathologischer Seren.

Die Gruppe der Transferrine konnte ohne spezifische Färbung in den verschiedenen untersuchten Seren beurteilt werden.

Demnach konnte in allen Seren ein Komplex von drei Fraktionen nachgewiesen werden, in welchem die mittelständige Fraktion an Intensität (Konzentration) besonders hervortrat, während die unmittelbar diesseits und jenseits von dieser Komponenten gelegenen Fraktionen nur schwach nachzuweisen waren.

Eine besondere Transferrin-Konstellation konnte in keinem der untersuchten Seren aufgezeigt werden.

2. Darstellung einzelner HP-Typen nach PAA-Gel-Elektrophorese mit Hilfe der Benzdin-Reaktion.

Aufgrund dieser Untersuchungen konnte in dem vorliegenden Serumgut im wesentlichen der Hp-Typ 2-2, sowie Hp-Typ 2-1 nachgewiesen werden.

Der Typ 1-1 war nur in sechs unter den 110 Fällen nachweisbar. Der Typ 2-2 dominierte. (1,6,10,15,16,18)

Eine exakte Zuordnung der Hp-Typen zu den Protein-Fraktionen des Serums gelingt nur unter der Voraussetzung, daß die proteingefärbten Seren hämolytisch waren.

D i s k u s s i o n :

Hinsichtlich der technischen Voraussetzungen für eine PAA-Gel-Elektrophorese stellen die handelsüblichen Fertig-Gele zweifellos eine große Erleichterung für diese Protein-Analyse dar.

PAA-Gel-Elektrophorese auf Planen Platten oder auf Objektträgern setzt bei Selbstansatz einen wesentlich größeren Arbeits- und Zeitaufwand voraus, als jede andere bisher bekannte Elektrophoresetechnik.

(11,16)

Die Disk-Elektrophorese (11) im PAA-Gel erweist sich als vorteilhafter. Diese Technik wiederum macht es erforderlich, daß eine komplette apparative Einrichtung beschafft werden muß, während für die Plane PAA-Gel-Elektrophorese die Grundausrüstung jeder Elektrophoreseapparatur genügt.

Als günstige Lösung hat sich nun die von der Industrie entwickelte Möglichkeit, die Herstellung von PAA-Gel-Platten angeboten. Diese Fertig-Gele bedürfen nur einer geringen Aufbereitung. Sie sind durch Zumischung bestimmter Puffer speziell auf eine detaillierte Differenzierung von -Globulinen abgestimmt.

Für die Auswertung der Proteinkomponenten nach Trennung der Vollseren und Färbung mit Amidoschwarz 10 B, machen sich die Schichtdicke der PAA-Gele und die Geleigenschaften mit langer Farbhafteung nachteilig bemerkbar. Eine exakte Extinction ist praktisch nur nach völliger Entfernung des Grundtones (am besten durch Elektrophorese) möglich.

Dagegen gelingt erfahrungsgemäß für die Hp-Typen Bestimmung die spezifische Oxydase-Reaktion und deren direkte Beurteilung, also ohne Extinktionskurven und ohne Bestimmung der relativen Verteilung, ohne Nachteiligkeit.

Das PAA-Gel ermöglicht im Vergleich zu anderen Elektrophoresemedien eine bessere Differenzierung. (19) Sie entspricht zwar weitgehend den Ergebnissen der Störkeelektrophorese, hier aber liegt der Vorteil in der Möglichkeit, die Trennung auf Fertig-Gelen vornehmen zu können.

Betrachtet man die Trennergebnisse des Vollserums mit nachfolgender Amidoschwarzfärbung, so ist festzustellen, daß diese mit der PAA-Gel-Elektrophorese auch unter Verwendung von Fertig-Gelen einwandfrei sind. Gleichwohl werden diese Gele in vor-

liegender Form vorzugsweise für die Trennung von - Globulinen hergestellt.

(spezifischen Puffern)

Die Trennung pathologischer Seren im PAA-Gel wird vorerst noch nach allen Erfahrungen der Serumprotein-Grundlagenforschung dienen. Es bedarf sicher noch einer geraumen Zeit, um diese Methode etwas für das klinische Laboratorium im Rahmen der Routinediagnostik einzusetzen.

=====

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. BAJYTZADEH MANSUR and HUBERT WALTER
Serumprotein Polymorphisms in
Iran.
Humangenetik, 6, 40-54 (1968)
2. BEUING H., H. CLEVE und H. DEICHER
Immunologische Untersuchungen
menschlicher Haptoglobine.
Zeitschrift f. Hygiene 151,
291-310 (1965)
3. BIEL H., HEIMBURGER, D. KRAFT, TH.
KRANZ, R. SCHMIDTBERGER
Einige neuere analytische Methoden zur Charakterisierung der
Plasmaproteine.
Behringwerk Mitt., 43, 1-82 (1964)
4. BIEL H. und O. ZWISLER
Über elektrophorese in horizontalem Polyacrylamid-Gel.

(4. Mitt.: Nachweis und Charakterisierung von Proteinen des menschlichen Serums mittels PAA-Gel-Elektrophorese und angeschlossener Immundiffusion).
Behringwerk-Mitt., 46, 141-165 (1966)

5. BIEL H. und O. ZWISLER

Elektrophorese in horizontalem
Polyacrylamidgel.
Z.klin. Chem.u.klin.Biochem., 2,
79-80 (1967)

6. D. FARHUD D., H. WALTER

Populationsgenetische Untersuchungen über die Verteilung der Haptoglobulin-Untergruppen.

7. FERRIS T.G., R.E. EASTERLING and R.E. BUDD

Determination of haptoglobintypes
by electrophoresis in acrylamide gel.
Clin. Chim. Acta, 8, 792-793 (1963)

8. HEIDE K. und H. HAUPT

Darstellung noch nicht therapeutisch
angewandter Plasmaproteine.

Behringwerk-Mitt. 43, 161-194 (1964)

9. IHM P. und G.G. WENDT

Statistische Betrachtung über die Häufig-
keit der Haptoglobin-Typen bei verschie-
denen Krankheiten.

Humangenetik, 2, 186-191 (1966)

10. KRÜPE M., I. SCHMITT

Die Haptoglobin-, , Globulin- und Trans-
ferrin-Serumgruppen des Menschen, ihre Dif-
ferenzierung mit der vertikalen Polyacry-
lamidgel-Elektrophorese.

Z.Immun.-Forsch./Band 137/Heft 4/307-313
Stuttgart, (1969)

11. MAURER H.R.

Disk-Elektrophorese.

Walter de Gruyter & Co. Berlin 30 (1968)

12. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und G. EISEN:
Differenzierung von Paraproteinen unter
Verwendung neuerer Elektrophoresetechni-
ken. Konsequenzen für die Praxis.
(Zum Druck vorbereitet)
13. SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und H. ZIMMERER:
Differenzierung der alkalischen und sauren
Phosphate im Polyacrylamidgel.
(Zum Druck vorbereitet)
14. SCHULTZE H.E., H. Haupt, K. HEIDE und
N. HEIMBURGER:
Über die Chemie des Haptoglobin-Polymor-
phismus.
Clin.Chim. Acta, 8: 207-214 (1963)
15. SCHLEIFER E.:
Haptoglobinspiegeluntersuchungen bei
Patienten mit Erkrankungen des rheu-
matischen Formenkreises.
München, (1966)
16. PROKOP O., G. UHLENBRUCK:
Lehrbuch der menschlichen Blut- und
Serumgruppen.
Veb. G. Thieme, Leipzig (1963)

17. PROKOP O.

Die menschlichen Blut- und Serumgruppen.

Verl. Gustav Fischer Verlag, Jena (1966)

18. WENDT G.G., A. ERMERT, G. KIRCHBERG und

I. KINDERMANN

ABO-Blutgruppen und Serumgruppen bei den

Negerstämmen Peulh und Marka.

Humangenetik, 4, 74-80 (1967)

19. ZWISLER O. und H. BIEL

Elektrophorese in horizontalem Polyacrylamidgel.

I. Mitt.: Einfluß versch. Elektrophoresebedingungen auf die Auflösung von Humanserum.

Z.klin.Chem., 2, 56-60 (1966)

20. ZWISLER O. und H. BIEL

Über Elektrophorese in horizontalem Polyacrylamid-Gel

3. Mitt.: Die Kombination von Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese und Immundiffusion.

Behringwerk Mitt., 46, 129-139 (1966)

Lebenslauf

Ich, Darjusch D. Farhud, wurde am 24. März 1938 als Sohn des Lehrers Mohammed D. Farhud und seiner Ehefrau Najere, geb. Kiai, in Teheran, Iran geboren. Mein Volksschulbesuch in Teheran dauerte von 1944-1950, wo ich anschließend von 1950-1956 das dortige Gymnasium besuchte und im Jahre 1957 das Abitur ablegte.

Meine weitere Ausbildung erfolgte in Deutschland, wo ich von 1958-1959 Gasthörer an der Universität Mainz war und von 1959-1964 als ordentlicher Student an der dortigen Medizinischen Fakultät Medizin und später an der Naturwissenschaftlichen Fakultät Anthropologie als Hauptfächer und Psychologie als Nebenfach belegt hatte. Meine Dissertationsarbeit, die noch nicht abgeschlossen ist, werde ich an der Naturwissenschaftlichen Fakultät, Institut für Anthropologie und Humangenetik vorlegen. Ab 1964 studierte ich an der Universität Erlangen Medizin und Anthropologie und Humangenetik und als Nebenfach Zoologie. Die Ärztliche Vorprüfung absolvierte ich im März 1967 in Erlangen und schloß dort im Juli 1970 das Staatsexamen in Medizin ab.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
